

Efectos del bloqueo del sistema renina angiotensina sobre el sistema dopaminérgico renal en un modelo experimental de dieta crónica alta en grasa

Effects of Renin-angiotensin System Blockade on the Renal Dopaminergic System in an Experimental Model of Chronic High-Fat Diet

SILVANA M. CANTÚ^{1,2}, HYUN J. LEE^{1,2}, CHRISTIAN HÖCHT¹, ADRIANA S. DONOSO^{1,2}, ANA M. PUYÓ^{1,2}, MARCELO R. CHOI³

RESUMEN

Introducción: El sistema dopaminérgico renal (SDR) ejerce efectos natriuréticos y diuréticos mediante receptores D1 y acciones antiinflamatorias mediante receptores D2. En contraste, la angiotensina II, vía receptores AT1, genera respuestas opuestas. El consumo crónico de dietas ricas en grasas se asocia con incremento de la presión arterial e inflamación renal.

Objetivo: Evaluar el impacto del tratamiento con losartán, antagonista de receptores AT1, sobre el SDR, la presión arterial y el daño renal inducido por una dieta rica en grasas.

Material y métodos: Ratas macho Sprague-Dawley fueron estudiadas durante 8 semanas y asignadas aleatoriamente a cuatro grupos experimentales (n=4-6): control (C), dieta grasa (DG), control + losartán (CL) y dieta grasa + losartán (DGL). Se determinaron presión arterial sistólica (PAS), parámetros corporales, bioquímicos, metabólicos plasmáticos y urinarios, función renal, excreción urinaria de L-dopa y dopamina (índice L-dopa/dopamina), expresión de receptores, transportadores de dopamina y marcadores de inflamación, así como estructura y ultraestructura renal. Análisis estadístico: prueba t de Student, ANOVA de una vía con *post hoc* de Tukey, correlación de Pearson y regresión lineal. Los resultados se expresaron como media \pm error estándar; significancia $p < 0,05$.

Resultados: El losartán previno el aumento de la PAS y del índice L-dopa/dopamina (DG vs. C, $p < 0,01$; DGL vs. DG, $p < 0,01$); la reducción de la excreción fraccional y urinaria de sodio y de la diuresis (DG vs. C, $p < 0,01$; DGL vs. DG, $p < 0,05$); y la disminución en la expresión de la proteína transportadora de membrana OCTN-1,2,3 (DG vs. C, $p < 0,01$; DGL vs. DG, $p < 0,05$). Evitó la sobreexpresión del receptor dopaminérgico D1DR y la Na⁺K⁺ATPasa (DG vs. C: $p < 0,01$; DGL vs. DG: D1DR $p < 0,01$; Na⁺K⁺ATPasa $p < 0,05$) y redujo la activación del factor nuclear kappa B, NF- κ B, y el factor de crecimiento transformante beta 1, TGF-beta1, (DGL vs. DG, $p < 0,01$). Mitigó las alteraciones estructurales de los túbulos proximales, el incremento de fibrosis intersticial (DGL vs. DG, $p < 0,01$) y los cambios ultraestructurales en los pedicelos podocitarios observados en DG.

Conclusiones: En condiciones de consumo crónico de dieta rica en grasas, la administración temprana de losartán favoreció la actividad del SDR, previno el aumento de la PAS y atenuó la fibrosis intersticial y la inflamación renal, contribuyendo a la protección frente al daño de órgano blanco.

Palabras clave: Dopamina renal - Dieta rica en grasas - Presión arterial - Inflamación - Fibrosis - Losartán.

ABSTRACT

Background: The renal dopaminergic system (RDS) exerts natriuretic and diuretic effects through D1 receptors and anti-inflammatory actions through D2 receptors. In contrast, angiotensin II, via AT1 receptors, generates opposite responses. Chronic consumption of high-fat diets (HFD) is associated with increased blood pressure and renal inflammation.

REV ARGENT CARDIOL 2025;93:437-447. <https://doi.org/10.7775/rac.es.v93.i6.20946>

Recibido: 18/11/2025 - Aceptado: 11/12/2028

Dirección para correspondencia: Silvana M. Cantú. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento de Ciencias Biológicas. Cátedra de Anatomía e Histología. Junín 956, Piso 1, CP C1113AAD, C.A.B.A. E-mail: smcantu@ffyb.uba.aEste artículo resultó ganador del

Este trabajo resultó ganador del Premio Braun Menéndez en el 51 Congreso Argentino de Cardiología



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

©Revista Argentina de Cardiología

¹ Cátedra de Anatomía e Histología. Departamento de Ciencias. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

² Laboratorio de estudios del síndrome metabólico experimental. Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

³ Instituto Alberto C. Taquini de Investigaciones en Medicina Traslacional (IATIMET). CONICET. Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

Objective: This study aimed to evaluate the impact of treatment with losartan, an AT1 receptor antagonist, on the RDS, blood pressure, and renal damage induced by a HFD.

Methods: Male Sprague–Dawley rats were studied for 8 weeks and randomly assigned to four experimental groups (n=4–6): control (C), high-fat diet (HFD), control + losartan (CL), and high-fat diet + losartan (HF DL). Systolic blood pressure (SBP), body, and plasmatic and urinary biochemical and metabolic parameters were assessed. Renal function, urinary excretion of L-dopa and dopamine (L-dopa/dopamine index), expression of receptors, dopamine transporters, and markers of inflammation, as well as renal structure and ultrastructure were also evaluated. Statistical analysis was performed using Student's t-test, one-way ANOVA with Tukey's post hoc test, Pearson's correlation, and linear regression. Results are expressed as mean ± standard error and p<0.05 was the level of significance.

Results: Losartan prevented the increase in SBP and the L-dopa/dopamine index (HFD vs. C, p<0.01; HF DL vs. HFD, p<0.01); the reduction in fractional and urinary sodium excretion and diuresis (HFD vs. C, p<0.01; HF DL vs. HFD, p<0.05); and decreased expression of the membrane transporter protein OCTN-1,2,3 (HFD vs. C, p<0.01; HF DL vs. HFD, p<0.05). It avoided overexpression of the dopamine D1 receptor (D1R) and Na⁺K⁺ATPase (HFD vs. C, p<0.01; HF DL vs. HFD, D1R p<0.01 and Na⁺K⁺ATPase p<0.05) and reduced the activation of nuclear factor kappa B, and transforming growth factor beta 1 (HF DL vs. HFD, p<0.01). It also mitigated structural alterations in the proximal tubules, increased interstitial fibrosis (HFD, p<0.01) and ultrastructural changes in the podocyte pedicels observed in HFD.

Conclusions: Under conditions of chronic consumption of a HFD, early administration of losartan favored RDS activity, prevented an increase in SBP, and attenuated interstitial fibrosis and renal inflammation, contributing to protection against target organ damage.

Keywords: Renal dopamine - High-fat diet - Blood pressure - Inflammation - Fibrosis - Losartan

INTRODUCCIÓN

El consumo mundial de dietas ricas en carbohidratos y grasas constituye un factor determinante en el desarrollo del síndrome metabólico (SM), definido por la concurrencia de al menos tres alteraciones metabólicas –hiperglucemia, hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina, hipertensión arterial (HTA), inflamación sistémica o aumento del perímetro de cintura– que comprometen diversos órganos, en particular el riñón, esencial en la homeostasis hidroelectrolítica y el control de la presión arterial. (1,2) Las dietas hipercalóricas inducen disfunción renal estructural y funcional e incrementan el riesgo de HTA, una enfermedad crónica y asintomática responsable de aproximadamente el 50% de la mortalidad cardiovascular global. (3,4) Según un estudio poblacional de la Organización Mundial de la Salud publicado en *The Lancet* en 2021, que incluyó 104 millones de participantes, la prevalencia de HTA fue de 59 % en mujeres (55-62 años) y 49 % en varones (46-52 años), con tratamiento en solo 47% y 38 %, respectivamente. (5) Más recientemente, en 2023 el informe de la OMS “*Global Report on Hypertension: The Race Against a Silent Killer*” señaló una prevalencia mundial del 34 % en varones y del 32 % en mujeres, diferencia que tiende a desaparecer con el avance de la edad. (6) En Argentina, el estudio RENATA 2 (2017) reportó una incidencia de 36,3 % en adultos de 26-60 años, mayor en varones. (7)

En la regulación renal de la presión arterial destacan el sistema dopaminérgico renal (SDR) y el sistema renina-angiotensina (SRA). El SDR, localizado en el túbulo contorneado proximal, promueve natriuresis, diuresis y efectos antiinflamatorios actuando sobre receptores D1 y D2, contrarrestando la acción de insulina y angiotensina II (Ang II). (8) Por el contrario, la sobreactivación del SRA estimula la reabsorción tubular de sodio y agua e incrementa la inflamación y el estrés

oxidativo. Ambos sistemas mantienen un antagonismo funcional, ya que la angiotensina II inhibe la síntesis y actividad dopaminérgica. (9) En este marco, el cociente L-dopa/dopamina ha sido propuesto como biomarcador temprano de daño renal en modelos animales de HTA inducida por fructosa. (10)

El tratamiento farmacológico de la HTA incluye antagonistas del receptor AT1 (AT1R), entre ellos el losartán (L), un bloqueante competitivo, potente y selectivo que inhibe de forma específica los efectos de la Ang II. (11) Aunque su eficacia antihipertensiva es conocida, su capacidad de modular el equilibrio SDR–SRA en el SM inducido por dietas grasas (DG) como parte de su acción nefroprotectora no ha sido del todo aclarada. En este contexto, se propuso evaluar si la DG altera dicho equilibrio como mecanismo de HTA, y si el tratamiento temprano con L previene estas alteraciones en un modelo experimental de SM inducido por DG durante 8 semanas, analizando además la utilidad del índice L-dopa/dopamina como biomarcador temprano de disfunción renal.

MATERIAL Y MÉTODOS

A) Animales, diseño experimental y dieta.

Ratas macho Sprague-Dawley (6 semanas de edad, 180-200 g; Bioterio Central, FFyB-UBA) se mantuvieron en condiciones controladas (22 ± 2°C, 50-70% humedad, 12 h luz/oscuridad), y se estudiaron durante 8 semanas, distribuidas en cuatro grupos (n=4-6):

- C: dieta estándar y agua *ad-libitum* (SD; Asociación Cooperativas Argentinas; 20 % proteínas, 3 % grasa, 2 % fibra, 6 % minerales, 69 % almidón, vitaminas; 3,3 kcal/g);
- DG: SD + 50 % p/p grasa y agua *ad-libitum* (Faty, Quick-food S.A., Argentina; 9 kcal/g, 99 % grasa total, 77 % saturada, 19 % trans);

- CL: C + losartán (L), 30 mg/kg/día, agua. Losartan potásico, 100% en base seca, Droguería Saporiti S.A.C.I.F.I.A, Buenos Aires, Argentina);
- DGL: DG + CL.

B) Peso corporal, ingesta y calorías.

El peso corporal se registró diariamente. La ingesta de alimento y bebida se midió cada 48 h. Se calcularon: I) alimento (g/día) = ofrecido – remanente; II) bebida (mL/día) = ofrecido – remanente; III) calorías: C y CL = SD (g) × 3,3 kcal/g; DG y DGL = SD (g) × 3,3 kcal/g + grasa (g) × 9 kcal/g.

C) Presión arterial sistólica (PAS).

Se midió al inicio y antes del sacrificio por pletismografía de cola con esfigmomanómetro fotoeléctrico (Grass D.C. 7DAC) y osciloscopio (Grass D.C. 79D, Grass Instruments Co., USA).

D) Recolección de orina y sangre.

Tres días antes del sacrificio los animales se alojaron en jaulas metabólicas por 48h. Recolección de orina: I) la fracción urinaria de las primeras 6 h fue recuperada en solución acuosa de ácido clorhídrico con una concentración 6 Normal (HCl 6 N), alicuotada en HCl 1 N y –80 °C para determinación de L-dopa y dopamina por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC); II) la fracción urinaria de las siguientes 18 h se conservó a –20 °C para determinar sodio, creatinina y albúmina (Spectrum CCX, Abbott Diagnostics, USA). La diuresis se determinó por volumen total orinado en 24 h. El día del sacrificio, tras un ayuno de 6 h, se obtuvo sangre por punción retroorbitaria bajo anestesia (ketamina 80 mg/kg + xilazina 12 mg/kg, PRO-SER SA).

E) Obtención de tejidos.

Se realizó el sacrificio con los animales anestesiados, en cámara con CO₂. Los riñones se decapsularon, pesaron y distribuyeron al azar para histología, microscopía electrónica de transmisión (MET), y Western blot.

F) Determinaciones.

F-1) Metabolismo plasmático: Glucemia con Accu-Chek Performa Nano (Roche Diagnostics, Alemania). Trigliceridemia con kit TG Color GPO/PAP AA (Wiener Lab., Argentina). Insulina por ELISA (Mercodia Rat Insulin ELISA, Suecia). Se calcularon el producto triglicérido glucosa (TyG) (12) y el índice de Evaluación del Modelo Homeostático de la Resistencia a la Insulina (HOMA-IR). (13)

F-2) Función renal: Se midió sodio y creatinina en plasma y orina (Spectrum CCX); tasa de filtración glomerular (TFG) estimada por *clearance* de creatinina; función tubular evaluada por excreción urinaria de sodio (UNa⁺V) y excreción fraccional de sodio (FENa⁺).

F-3) Catecolaminas urinarias: L-dopa y dopamina se midieron por HPLC en fase reversa (columna Zorbax Rx18; DuPont, USA; detección amperométrica, ESA, USA). Estándar interno: 3,4-dihidroxibencilamina

(Sigma-Aldrich, Cat. No. 858781). Estándares externos: L-dopa (Cat. No. 13248) y dopamina (Cat. No. 21992) ambos de Cayman Chemical. Límite de detección: 20 pg/muestra.

F-4) Albuminuria: Se midió con equipo Cobas (ALBT2 Tina-quant Albumin Gen.2; Roche Diagnostics, Suiza); Se determinó la relación Albúmina/Creatinina urinaria, considerando microalbuminuria entre 30-300 mg/g. (14)

F-5) Expresión proteica renal determinada por Western blot: el transportador de aminoácidos y hormona tiroidea LAT2, las proteínas transportadoras de membrana OCT2 y OCTN1,2,3, los receptores dopaminérgicos D1DRy D2DR, el receptor de Ang II AT1R, la sodio-potasio ATPasa Na⁺K⁺ATPasa, el factor de crecimiento transformante beta 1 TGF-beta1 y el factor nuclear kappa B1 NFkB1. Control de carga: beta-tubulina. Análisis por densitometría óptica (ImageJ). Debido a que varios de los anticuerpos tienen un peso molecular similar entre sí, se utilizó la técnica de *stripping* de membrana con ácido acético al 5% luego del revelado del anticuerpo primario a fin de marcar la expresión del control de carga. (Tabla 1)

F-6) Histología renal: Cortes de 8 micrones de espesor teñidos con hematoxilina-eosina, y Sirius Red (15). Fibrosis cortical cuantificada en 20 campos/animal (ImageJ) utilizando un microscopio Nikon Type 104c para obtención de las imágenes. La fibrosis cortical se expresa como: porcentaje de fibrosis (%) = [Σ colágeno intersticial cortical / (Área total – Σ vasos)] × 100.

F-7) Ultraestructura renal; Fragmentos corticales renales de 1 mm³ se destinaron para MET y se observaron con MET Zeiss EM 109T con cámara digital Gatan ES1000W.

Análisis estadístico

Se empleó InfoStat. Test t y ANOVA una vía con Tukey; correlaciones por Pearson y regresión lineal. Los resultados se expresaron como media ± error estándar de la media (ESM), significancia p < 0,05. Gráficos en GraphPad Prism v10.2.3.

Consideraciones éticas

Procedimientos aprobados por CICUAL-UBA (Res. CD N° 1881/1999, director Dr. M. R. Choi), conforme a normas internacionales de ética en experimentación animal.

RESULTADOS

La Tabla 2 muestra que la DG indujo un aumento significativo del peso corporal respecto a C, prevenido por L en DGL. La ingesta de alimento disminuyó en DG frente a C, efecto revertido por L, mientras que la ingesta calórica se incrementó en DG sin diferencias entre DG y DGL. La ingesta de agua no varió entre grupos. Los parámetros plasmáticos mostraron incrementos significativos en DG respecto a C, con reducciones en triglicéridos e insulina en DGL; TyG y HOMA-IR no difirieron entre grupos.

En la Tabla 3, se evidencia cómo la DG elevó la PAS y el índice urinario L-dopa/dopamina respecto a C,

Tabla 1. Anticuerpos primarios utilizados para el Western blot

Proteína	Anticuerpo	Dilución	Peso molecular	Proveedor y N° de catálogo
D1DR	Policlonal de conejo anti-D1DR	1:1000	50 kDa	Proteintech, número de catálogo 17934-1-AP
D2DR	Policlonal de conejo anti-D2DR	1:600	51 kDa	Proteintech, número de catálogo 55084-1-AP
OCTN 1,2,3	Policlonal de conejo anti-OCTN 1,2,3	1:2000	90 kDa	Santa Cruz Biotechnology, Inc., número de catálogo sc-33534
OCT2	Policlonal de cabra anti-OCT2	1:800	50 kDa	Santa Cruz Biotechnology, Inc., número de catálogo sc-19814
LAT2	Policlonal de cabra anti-LAT2	1:800	50 kDa	Santa Cruz Biotechnology, Inc., número de catálogo sc-27581
AT1R	Policlonal de conejo anti-AT1R	1:1000	50 kDa	Proteintech, número de catálogo 25343-1-AP
Na ⁺ K ⁺ ATPasa	Policlonal de conejo anti-alfa-1 Na ⁺ K ⁺ ATPasa	1:10000	105 kDa	Abcam, número de catálogo ab74945
NFκB1	Policlonal de conejo anti-NFκB1	1:1000	50 kDa y 105 kDa	Proteintech, número de catálogo 14220-1-AP
TGF-beta1	Policlonal de conejo anti-TGF-beta1	1:500	44 kDa	Proteintech, número de catálogo 21898-1-AP
Beta-tubulina	Policlonal de conejo anti-beta-tubulina	1:3000	50 kDa	Abcam, número de catálogo ab6046

Tabla 2. Peso corporal, ingesta de alimento, bebida y calorías. Parámetros metabólicos plasmáticos.

Parámetro	C	DG	CL	DGL
Peso corporal (g)	415,7±8,7	473,8±14,1*	389,7±3,8	359,13±7,93 [§]
Ingesta de alimento (g/24 hs)	20,9±3,6	13,8±1,3†	28,4±3,5	18,6±1,7 [‡]
Ingesta de agua (mL/24 hs)	12,5±3,9	12,4±0,7	20,5±2,7	19,1±1,3
Ingesta calórica (kcal/24 hs)	60,5±10,8	103,6±11,5*	72,4±11,4	119,3±11,1
Triglicéridos (mg/dL)	59,68±6,13	119,25±4,17 [†]	53,20±4,41	82,97±6,93 [‡]
Glucemia (mg/dL)	117,5±7,5	152,2±4,6 [†]	100,3,3±29,6	173,7±14,0 [‡]
Índice TyG	8,0±0,2	10,5±0,1 [†]	8,1±0,3	10,2±0,2
Insulina (ng/mL)	1,20±0,10	4,20±0,50 [†]	1,3±0,2	2,8±0,4 [‡]
HOMA-IR	0,7±0,1	3,3±0,5 [†]	1,5±0,7	3,2±0,5

Los resultados están expresados como la Media ± ESM. La significancia está expresada como: *p<0,05 C vs DG; †p<0,01 C vs DG; ‡p<0,05 DGL vs DG; §p<0,01 DGL vs DG; C: dieta estándar y agua ad-libitum (SD); CL: C + losartán (L); DG: SD + 50% p/p grasa y agua ad-libitum; DGL: DG + CL; ESM: error estándar de la media HOMA-IR: Evaluación del Modelo Homeostático de la Resistencia a la Insulina; TyG: producto triglicéridos-glucosa

efectos atenuados por L en DGL; CL mostró reducción adicional de PAS respecto a C. No se observaron cambios en la relación albúmina/creatinina urinaria ni en TFG. La diuresis, la FENa⁺ y la UNa⁺·V disminuyeron en DG, y fueron prevenidas por L en DGL.

La tinción con hematoxilina-eosina evidenció vacuolas citoplasmáticas en células tubulares corticales en DG versus C, sin alteraciones en CL respecto a C;

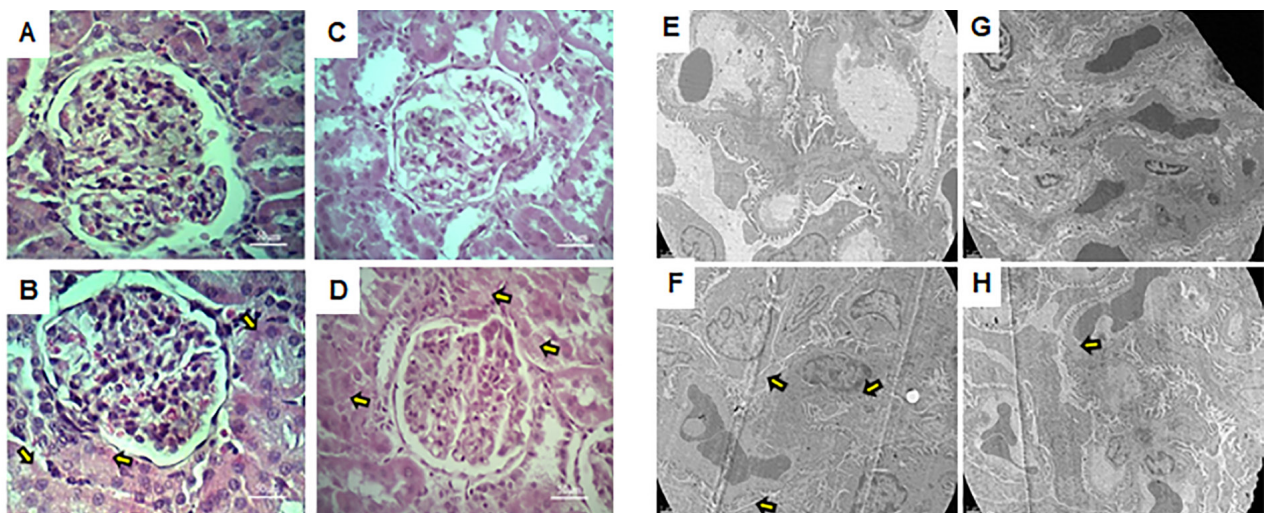
con DGL se presentaron vacuolas menores respecto a DG (Figura 1 A a D). La ultraestructura podocitaria mostró acortamiento y fusión de pedicelos en DG, prevenido por L en DGL, sin diferencias entre CL y C (Figura 1 E a H).

La DG sobreexpresó AT1R y redujo la proteína transportadora de membrana OCTN1,2,3, respecto al C, mientras que L previno dicha disminución. También

Tabla 3. Presión arterial sistólica. Índice urinario L-dopa/dopamina. Parámetros plasmáticos y urinarios evaluados de función renal

Parámetro	C	DG	CL	DGL
PAS (mmHg)	120,7±2,3	134,8±2,3†	106,4±2,5 ¶	109,5±2,0§
Índice L-dopa/dopamina	1,1±0,1	2,9±0,2†	1,8±0,1	1,8±0,1§
Albumina/Creatinina urinaria (mg/g)	17,42±1,98	12,93±0,66	15,31±1,52	8,45±1,13
Diuresis (mL/24 hs)	16,4±2,2	3,5±0,3†	17,28±1,38	6,23±0,93‡
TFG (mL/min)	1,65±0,27	1,38±0,11	1,77±0,20	1,42±0,09
FENa ⁺ (%)	0,50±0,06	0,16±0,02†	0,51±0,02	0,32±0,05‡
UNa ⁺ V (mEq/24 hs)	1,78±0,18	0,45±0,05†	1,95±0,01	0,78±0,10‡

Los resultados están expresados como la Media ± ESM. La significancia está expresada como: *p<0,05 C vs DG; †p<0,01 C vs DG; ‡p<0,05 DGL vs DG; §p<0,01 DGL vs DG; ¶p<0,01 CL vs C; ESM: error estándar de la media; FENa⁺: excreción fraccional de sodio; PAS: presión arterial sistólica; UNaV: excreción urinaria de sodio; TFG: tasa de filtrado glomerular

Fig. 1. Estructura y ultraestructura de la corteza renal

Fotos A, B, C, y D: Microscopía óptica con tinción de hematoxilina y eosina, aumento total: 400X. Fotos E, F, G, y H: Microscopía electrónica de transmisión, aumento total: 7000X. Nomenclatura: A-E: grupo C. B-F: grupo DG. C-G: grupo CL. D-H: grupo DGL. En A, B, C y D las flechas amarillas apuntan a las vacuolas citoplasmáticas de las células tubulares. En E, F, G y H, las flechas amarillas señalan a los pedicelos de los podocitos con morfología alterada.

L previno la sobreexpresión del receptor dopaminérgico D1DR en DGL respecto de DG y, D2DR disminuido en DG, no se modificó con L. LAT2 y OCT2 no variaron entre grupos. La Na⁺K⁺ATPasa se incrementó en DG, pero L la mantuvo en valores normales en DGL respecto de DG (Figura 2).

El índice L-dopa/dopamina correlacionó positivamente con PAS, insulinemia y D1DR, e inversamente con la UNa⁺V y OCTN1,2,3. L previno dichas alteraciones en DGL comparado con DG (Figura 3).

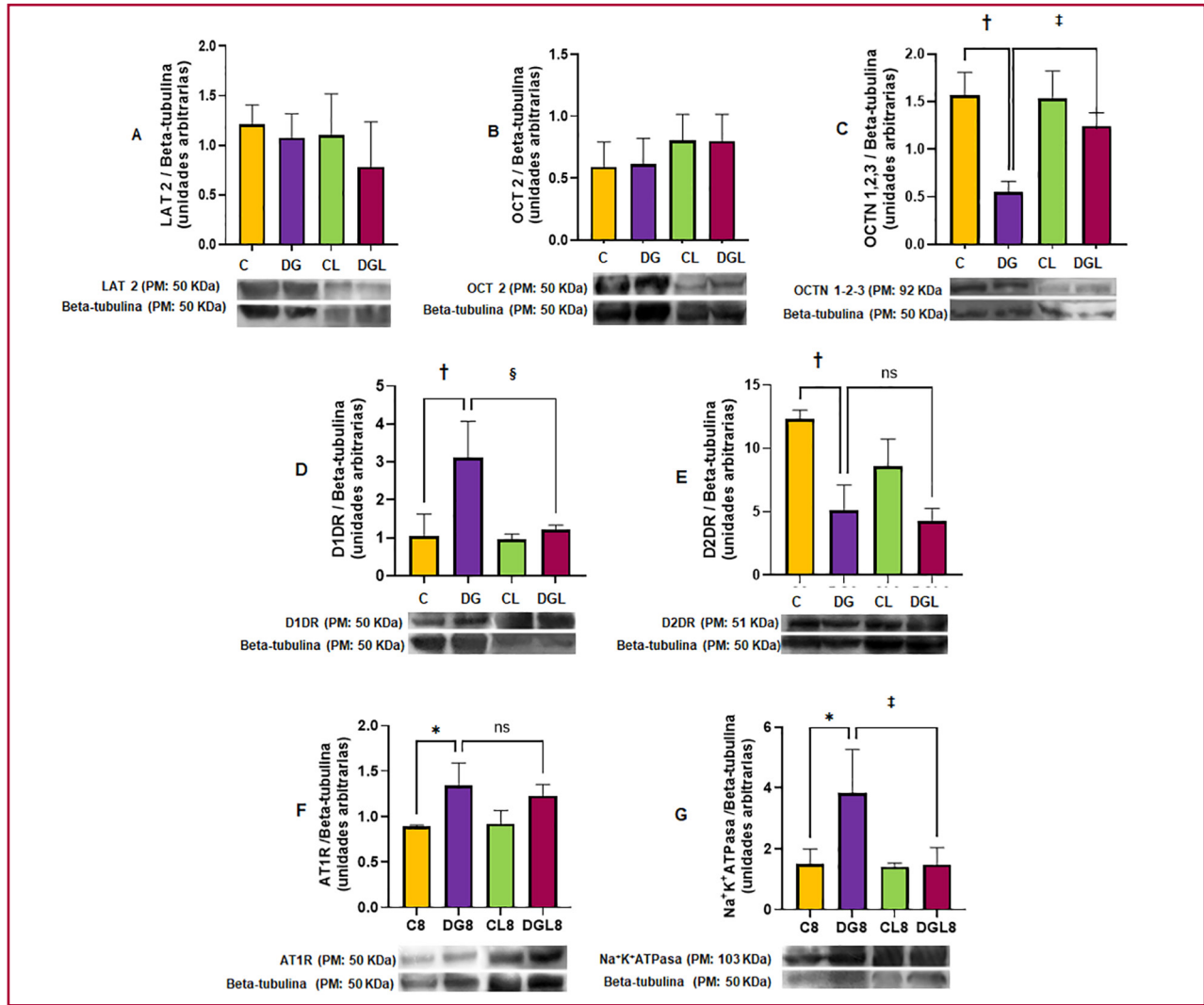
La DG aumentó significativamente la expresión de NFκB1 y TGF-beta1, efectos que fueron prevenidos por L en DGL. La fibrosis intersticial se incrementó en DG frente a C, y L lo previno significativamente en DGL

respecto a DG, con focos residuales, sin cambios en CL respecto a C. El análisis semicuantitativo confirmó estos hallazgos (Figura 4).

DISCUSIÓN

El consumo de DG incrementó significativamente el peso corporal respecto del C, efecto que fue prevenido por L. Aunque la ingesta de alimento fue menor en DG, la densidad calórica de la dieta resultó en un 33 % más de calorías consumidas, lo que explica el aumento en el peso corporal, en concordancia con lo reportado por Pinhal et al. (16) Nuestros resultados coinciden con Smith et al. (17), quienes describieron un efecto

Fig. 2. Evaluación de la expresión de proteínas del SDR, del SRA y de la Na⁺K⁺ATPasa en corteza renal por Western blot.



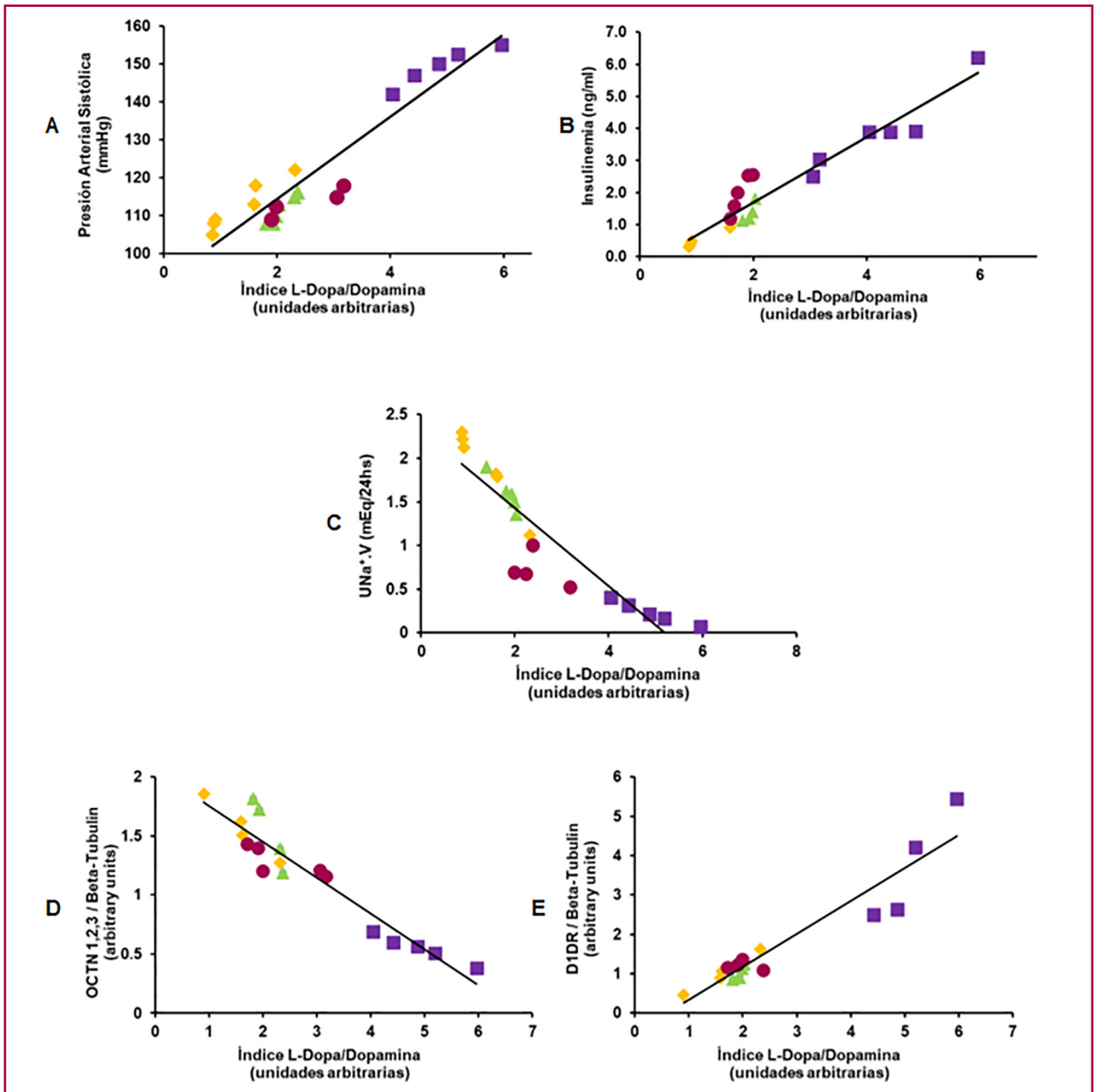
A: LAT2. B: OCT 2. C: OCTN 1,2,3. D: D1DR. E: D2DR. F: AT1R. G: Na⁺K⁺ATPasa. Los resultados están expresados como la media ± ESM. La significancia está expresada como: *p<0,05 C vs DG; †p<0,01 C vs DG; ††p<0,05 DGL vs DG; †‡p<0,01 DGL vs DG; C: control; CL: C + losartán; DG: dieta grasa; DGL: DG + CL; ESM: error estándar de la media; SDR: sistema dopaminérgico renal; SRA: sistema renina angiotensina. Resto de las abreviaturas ver el texto.

reductor de L sobre peso corporal, sugiriendo un rol modulador del antagonismo AT1 en la obesidad inducida por DG. Asimismo, Hosseini et al. (18) sugirieron que el L puede mejorar la resistencia a la leptina y modular el peso corporal en condiciones de obesidad inducida por la dieta. La ingesta de agua no difirió entre grupos y la administración de L en agua de bebida, validada previamente, (19) evitó el sesgo asociado al *gavage* (alimentación forzada) crónico.

El perfil metabólico mostró resistencia a la insulina en DG respecto de C, con aumento de triglicéridos, glucemia, insulina, TyG y HOMA-IR, en concordancia con reportes previos en modelos de SM inducido por DG. (18) L atenuó parcialmente triglicéridos e insulina, sin modificar glucemia ni los índices, mientras que CL no difirió de C. Estos hallazgos coinciden con literatura que vincula las alteraciones metabólicas causadas por

DG y los efectos beneficiosos de L, que propusieron que este efecto podría deberse a la reducción del estrés oxidativo vía activación de superóxido dismutasa (SOD), aunque el mecanismo preciso permanece incierto. (17,20)

La DG incrementó significativamente la PAS respecto de C, en concordancia con lo evidenciado por Jin et al. y Li et al. (21,22) quienes demostraron que la DG induce obesidad, resistencia a la insulina e hiperinsulinemia, acompañadas de activación del SRA, aumento de Ang II, aldosterona y expresión de AT1R, junto con inflamación y fibrosis renal. En nuestro modelo, la administración concomitante de L previno el aumento de PAS en DGL frente a DG, efecto atribuible a su acción antagonista sobre AT1R. (16) Además, L redujo significativamente la PAS en controles normotensos (CL), en línea con lo reportado por Lee et al. (19) Li et al.

Fig. 3. Correlaciones funcionales con el índice L-dopa/dopamina

A: Regresión lineal PAS versus índice L-dopa/DA; $r = 0,95$, $R^2 = 0,90$, $p < 0,01$; B: Regresión lineal Insulinemia versus índice L-dopa/DA; $r = 0,96$, $R^2 = 0,91$, $p < 0,01$. C: Regresión lineal de UNa^+V versus índice L-dopa/DA; $r = 0,91$, $R^2 = 0,83$, $p < 0,01$; D: Regresión lineal OCTN 1,2,3 versus índice L-dopa/dopamina; $r = 0,95$, $R^2 = 0,91$, $*p < 0,01$; E: Regresión lineal D1DR versus índice L-dopa/dopamina; $r = 0,95$, $R^2 = 0,89$, $*p < 0,05$
 Código de grupos y colores: C: Amarillo. DG: Violeta. CL: Verde. DGL: Bordo.

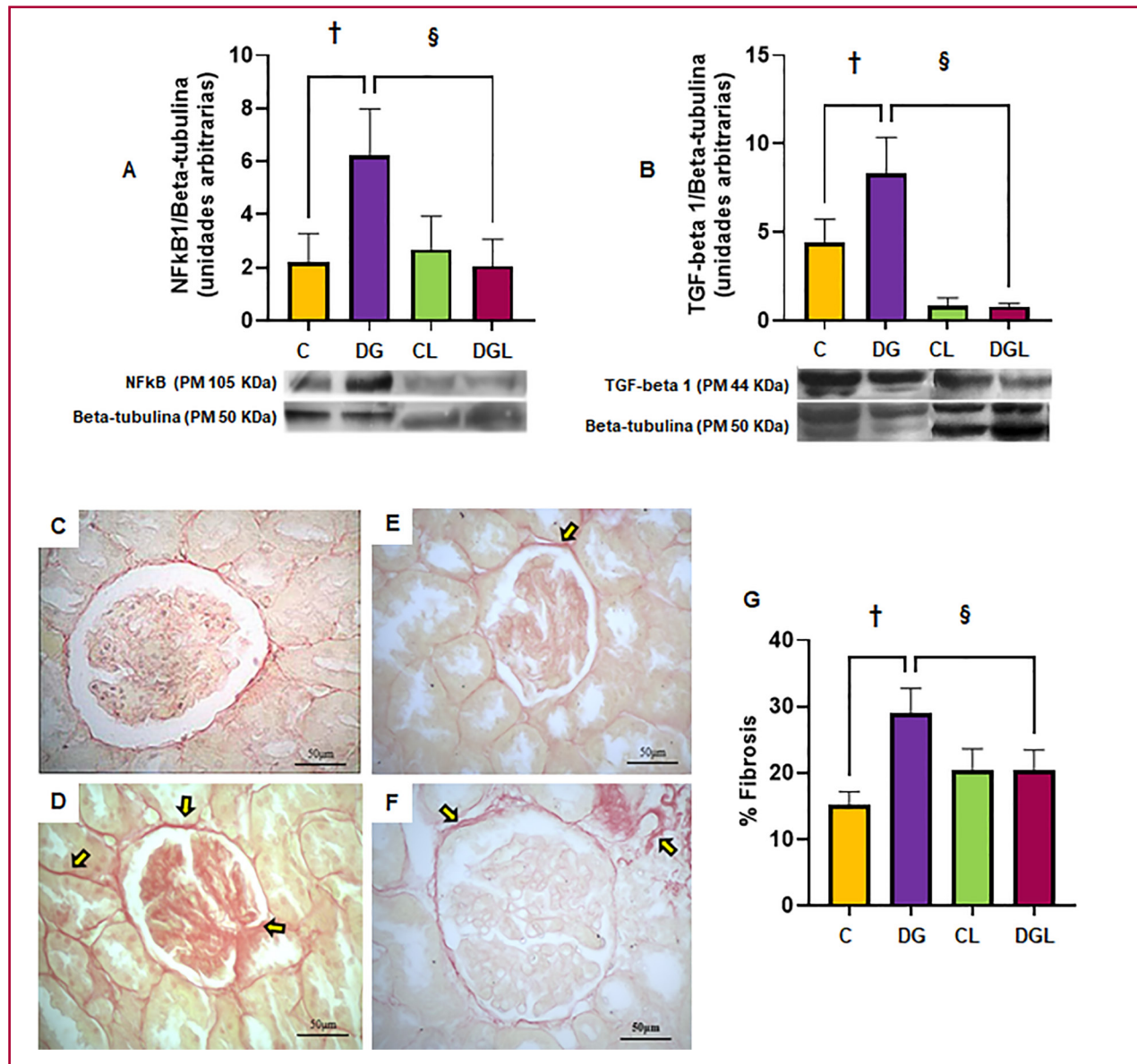
(22) describieron un efecto alostérico de L sobre AT1R, que potencia la actividad de D1DR contribuyendo a su acción antihipertensiva.

La TFG no mostró diferencias entre los grupos. Resultados similares fueron reportados por Roza et al. (23) en ratones tratados con DG a 8 y 12 semanas. Asimismo, otros grupos reportaron incrementos asociados a hiperfiltración glomerular en animales obesos. (24,25) Estos hallazgos sugieren que el efecto de las DG

sobre el TFG es variable. El tratamiento con L tampoco modificó este parámetro entre los grupos evaluados.

La relación albúmina/creatinina urinaria, más confiable que los valores absolutos de los metabolitos por separado, no superó 30 mg/g en ningún grupo, descartando microalbuminuria. L no modificó este marcador, sugiriendo que las alteraciones derivan de la dieta y no del fármaco. En contraste, Sánchez-Navarro et al. (26) reportaron aumento significativo bajo DG de mayor

Fig. 4. Evaluación de marcadores de inflamación en la corteza renal por Western blot y determinación del porcentaje de fibrosis por histología con tinción de Sirius red.



Gráficos: A: NfκB1. B: TGF-beta1. Los resultados están expresados como la Media ± ESM. La significancia está expresada como: †p<0,01 C vs DG; §p<0,01 DGL vs DG.

Foto C: grupo C. Foto D: grupo DG. Foto E: grupo CL. Foto F: grupo DGL. Gráfico G: porcentaje de fibrosis. Las flechas amarillas apuntan a los sitios de incremento en la fibrosis intersticial. Aumento total: 400X Los resultados están expresados como la Media ± ESM. La significancia está expresada como: †p<0,01 C vs DG; §p<0,01 DGL vs DG.

duración, lo que indica que el tiempo de exposición podría ser determinante.

La DG redujo la diuresis versus C, como informó Sánchez-Navarro et al. (26), posiblemente por una menor actividad del SDR y mayor del SRA. (10) L previno esta reducción en DGL, sugiriendo restauración de la función del SDR por bloqueo de AT1R. (22) Asimismo, la FENa⁺ y la UNa⁺·V se redujeron en DG, prevenidas parcialmente por L en DGL, aunque sin alcanzar valores de CL, indicando la posible participación de

mecanismos de reabsorción de sodio independientes de la Na⁺K⁺ATPasa como el intercambiador Na⁺/H⁺ o el canal de sodio epitelial ENaC. (27,28) Resultados previos muestran disparidad: Roza et al. (23) no observaron disparidad, mientras que Pinhal et al. (16) reportaron disminuciones de FENa⁺ y UNa⁺·V en obesidad o DG prolongada. La DG se asocia así con las alteraciones observadas, y L ejerce un efecto preventivo parcial.

Histológicamente, la DG indujo vacuolas citoplasmáticas en los TCP, ausentes en C, parcialmente pre-

venidas por L en DGL, sin cambios en CL. Aunque las tinciones para lípidos fueron negativas, la literatura sugiere que podrían corresponder a vacuolas lipídicas, (4,29) o a degeneración hidrópica por disfunción de $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ asociada a lipotoxicidad, (30) atenuada por L mediante reducción de inflamación y estrés oxidativo. (19) El estudio ultraestructural al MET mostró borramiento e interdigitación de pedicelos e hipertrofia podocitaria en DG, prevenidos parcialmente por L, lo que concuerda con el rol nefroprotector de la dopamina (31) y el efecto dañino de Ang II sobre AT1R. (32)

El SM inducido por DG se asocia con HTA a través de la activación del SRA, en particular por la acción de Ang II sobre AT1R, que estimula la bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$, favoreciendo la retención de sodio y reduciendo su excreción. (1,22) De manera concomitante, la DG inhibe la actividad del SDR, potenciando el efecto anti-natriurético. Existe una reciprocidad negativa entre AT1R y D1DR en células de tubo contorneado proximal (TCP), donde la activación de uno induce la internalización y abolición de la señalización del otro, actuando como una unidad de opuestos junto con la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ como diana común. (33) En humanos normotensos, se ha demostrado una interacción negativa entre SDR y SRA en la regulación del transporte renal de sodio, dependiente de la ingesta de este ión. (34) La DG incrementó la expresión renal de AT1R respecto de C, en concordancia con modelos de SM y activación del SRA. (21) L no previno su sobreexpresión en DGL, aunque mostró tendencia a reducción, sugiriendo que tiempos mayores podrían ser necesarios para evidenciar el efecto. En cambio, L normalizó el índice L-dopa/dopamina, incrementado en DG vs. C, (35) evidenciando mayor disponibilidad de dopamina tubular y excreción urinaria, asociada a restauración de transportadores OCTN1,2,3. LAT2 y OCT2 no se modificaron, en contraste con la sobrecarga de fructosa. (35) La DG aumentó D1DR, prevenido por L, y redujo D2DR, sin cambios por L, reflejando alteración dopaminérgica renal (36). La DG aumentó significativamente la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ cortical respecto de C, hallazgo coincidente con Deji et al. (9,37). L previno este incremento en DGL, sin modificar valores basales (CL vs. C), efecto explicado por su acción alostérica sobre AT1R-D1DR. (21)

El índice L-dopa/dopamina se correlacionó positivamente con PAS e insulina, y negativamente con UNa^+V y OCTN1,2,3, lo que vincula directamente al SDR con la regulación de presión arterial y el balance de sodio, en interacción con resistencia a la insulina. (38) L normalizó estas correlaciones mediante bloqueo de AT1R e inhibición de $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$. En conjunto, los resultados destacan el desequilibrio SDR/SRA inducido por DG y el potencial de L para prevenir la disfunción renal y hemodinámica asociada.

En cuanto a la inflamación, el SDR ejerce efectos antiinflamatorios, mientras que el SRA los potencia. (10,39) La dopamina renal, vía D1DR y D2DR, atenúa

los efectos de Ang II reduciendo inflamación y fibrosis (16). En contraste, la DG indujo un ambiente proinflamatorio con sobreexpresión de NFkB1 y TGF-beta1, incremento de fibrosis intersticial y activación de vías oxidativas. (3,11,39). L previno estos cambios al bloquear Ang II y permitir la acción protectora del SDR reduciendo la fibrosis, el estrés oxidativo. (40)

En conclusión, el tratamiento preventivo y continuo con L atenuó significativamente la actividad del SRA y reactivó el SDR. La inhibición de AT1R por losartán redujo la acción de la $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ y normalizó la expresión de D1DR, al tiempo que restableció los niveles de los transportadores OCTN1,2,3, favoreciendo el acceso de dopamina a la luz tubular. En consecuencia, aumentó la excreción urinaria de dopamina, se normalizó el índice L-dopa/dopamina y se potenció la interacción con D1DR, promoviendo la natriuresis y el restablecimiento del equilibrio SDR-SRA. Además, L mejoró la fibrosis intersticial, generó un entorno renal antiinflamatorio y preservó la estructura de los TCPs y la ultraestructura podocitaria.

LIMITACIONES

Dentro de las limitaciones del presente estudio podría mencionarse que la expresión de la bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ se determinó en forma total, sin discriminar entre la forma fosforilada o activa de la no fosforilada o inactiva. Asimismo, no se determinó la actividad de este transportador, basados en antecedentes propios del grupo de trabajo donde se demostró en un modelo de sobrecarga de fructosa y tratamiento con L, que no presentaba variaciones entre los diferentes grupos experimentales.

Por otra parte, no se pudo llevar a cabo la técnica de inmunohistoquímica tanto de los transportadores como de los receptores del SDR, lo cual hubiera brindado información acerca de la ubicación celular de las distintas proteínas, que se relacionaría directamente con la funcionalidad de dichas proteínas.

Como complemento de la MET, hubiera sido deseable determinar la expresión de nefrina y de podocalixina como marcadores estructurales de la integridad de la barrera de filtración glomerular, como así también, la determinación de la expresión de IL-6 como marcador agudo de inflamación complementario al NFkB1.

Está previsto realizar estas determinaciones a futuro a fin de completar el perfil correspondiente.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

(Véase formularios de conflictos de interés de los autores en la Web).

Financiamiento

El financiamiento provino de subsidios de investigación: 2014-2016: Proyecto BA105 / 2014-2017: Proyecto 20020130100019BA / 2018-2020 (prorrogado hasta 2022): Proyecto 20020170100621BA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gluba A, Mikhailidis DP, Lip GY, Hannam S, Rysz J, Banach M. Metabolic syndrome and renal disease. *Int J Cardiol* 2013;164:141-50. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2012.01.013>
2. Kassi E, Pervanidou P, Kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Med*. 2011;9:48. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-48>
3. Kotsis V, Nilsson P, Grassi G, Mancia G, Redon J, Luft F, et al. New developments in the pathogenesis of obesity-induced hypertension. *J Hypertens* 2015;33:1499-508. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000645>
4. Mount P, Davies M, Choy SW, Cook N, Power D. Obesity-related chronic kidney disease—the role of lipid metabolism. *Metabolites* 2015;5:720-32. <https://doi.org/10.3390/metabo5040720>
5. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *Lancet* 2021;398(10304):957-80.
6. World Health Organization. Global report on hypertension: the race against a silent killer. Geneva: WHO; 2023.
7. Delucchi AM, Majul CR, Vicario A, Cerezo GH, Fábregues G. Registro Nacional de Hipertensión Arterial. Características epidemiológicas de la hipertensión arterial en Argentina. *Estudio RENATA 2. Rev Fed Arg Cardiol*. 2017;46(2).
8. Choi MR, Lee BM, Fernández BE. Renal dopamine system: function, metabolism, and regulation. Kudo E, Fujii Y, editors. *Dopamine: Functions, regulation, and health effects*. New York: Nova Science Publishers; 2012. p. 1-48.
9. Gildea JJ. Dopamine and angiotensin as renal counterregulatory systems controlling sodium balance. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2009;18:28-32. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32831a9e0b>
10. Rukavina Mikusic NL, Kouyoumdzian NM, Del Mauro JS, Cao G, Trida V, et al. Effects of chronic fructose overload on renal dopaminergic system: alteration of urinary L-dopa/dopamine index correlates to hypertension and precedes kidney structural damage. *J Nutr Biochem* 2018;51:47-55. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.09.005>
11. Takimoto-Ohnishi E, Murakami K. Renin-angiotensin system research: from molecules to the whole body. *J Physiol Sci* 2019;69:581-7. <https://doi.org/10.1007/s12576-019-00679-4>
12. Simental-Mendía LE, Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F. The product of fasting glucose and triglycerides as surrogate for identifying insulin resistance in apparently healthy subjects. *Metab Syndr Relat Disord* 2008;6:299-304. <https://doi.org/10.1089/met.2008.0034>
13. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>
14. Inserra F, Angerosa M, Alegre JR. Documento de consenso: implicancia de la proteinuria en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad renal crónica. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2013;47(3).
15. Junqueira LCU, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J* 1979;11:447-55. <https://doi.org/10.1007/BF01002772>
16. Pinhal CS, Lopes A, Torres DB, Felisbino SL, Rocha Gontijo JA, Boer PA. Time-course morphological and functional disorders of the kidney induced by long-term high-fat diet intake in female rats. *Nephrol Dial Transplant* 2013;28:2464-76. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft304>
17. Smith PM, Hindmarch CC, Murphy D, Ferguson AV. AT1 receptor blockade alters nutritional and biometric development in obesity-resistant and obesity-prone rats submitted to a high-fat diet. *Front Psychol* 2014;5:832. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00832>
18. Sharieh Hosseini SG, Khatamsaz S, Shariati M. The effects of losartan on memory performance and leptin resistance induced by obesity and high-fat diet in adult male rats. *Iran J Basic Med Sci* 2014;17:41.
19. Lee HJ, Cantú SM, Primo MÁ, Peredo HA, Donoso AS, Puyó AM, et al. Losartan prevents mesenteric vascular bed alterations in high-fat diet fed rats. *Clin Investig Arterioscler* 2021;33:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2020.06.004>
20. Pan Y, Qiao QY, Pan LH, Zhou DC, Hu C, Gu HF. Losartan reduces insulin resistance by inhibiting oxidative stress and enhancing insulin signaling transduction. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2015;123:170-7. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1395658>
21. Jin N, Wang Y, Liu L, Xue F, Jiang TB, Xu MZ. Dysregulation of the renin-angiotensin system and cardiometabolic status in mice fed a long-term high-fat diet. *Med Sci Monit* 2019;25:6605. <https://doi.org/10.12659/MSM.914877>
22. Li D, Scott L, Crambert S, Zelenin S, Eklöf AC, Di Ciano L, et al. Binding of losartan to angiotensin AT1 receptors increases dopamine D1 receptor activation. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:421-8. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011040344>
23. Roza NA, Possignolo LF, Palanch AC, Gontijo JA. Effect of long-term high-fat diet intake on peripheral insulin sensibility, blood pressure, and renal function in female rats. *Food Nutr Res* 2016;60:28536. <https://doi.org/10.3402/fnr.v60.28536>
24. Tsuboi N, Okabayashi Y, Shimizu A, Yokoo T. The renal pathology of obesity. *Kidney Int Rep* 2017;2:251-60. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2017.01.007>
25. Wei P, Lane PH, Lane JT, Padanilam BJ, Sansom SC. Glomerular structural and functional changes in a high-fat diet mouse model of early-stage type 2 diabetes. *Diabetologia* 2004;47:1541-9. <https://doi.org/10.1007/s00125-004-1489-1>
26. Sánchez-Navarro A, Martínez-Rojas MA, Caldiño-Bohn RI, Pérez-Villalva R, Zambrano E, Castro-Rodríguez DC, et al. Early triggers of moderately high-fat diet-induced kidney damage. *Physiol Rep* 2021;9:e14937. <https://doi.org/10.14814/phy2.14937>
27. Pontes RB, Crajoinas RO, Nishi EE, Oliveira-Sales EB, Girardi AC, Campos RR, et al. Renal nerve stimulation leads to activation of the Na⁺/H⁺ exchanger isoform 3 via angiotensin II type 1 receptor. *Am J Physiol Renal Physiol* 2015;308:F848-56. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00515.2014>
28. Soundararajan R, Pearce D, Ziera T. The role of the ENaC-regulatory complex in aldosterone-mediated sodium transport. *Mol Cell Endocrinol* 2012;350:242-7. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.11.003>
29. Bobulescu IA. Renal lipid metabolism and lipotoxicity. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2010;19:393-402. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32833aa4ac>
30. Ho KM, Morgan DJ. The proximal tubule as the pathogenic and therapeutic target in acute kidney injury. *Nephron* 2022;14:494-502. <https://doi.org/10.1159/000522341>
31. Zhang MZ, Yao B, Yang S, Yang H, Wang S, Fan X, et al. Intrarenal dopamine inhibits progression of diabetic nephropathy. *Diabetes* 2012;61:2575-83. <https://doi.org/10.2337/db12-0046>
32. Pilvankar MR, Higgins MA, Ford Versypt AN. Mathematical model for glucose dependence of the local renin-angiotensin system in podocytes. *Bull Math Biol* 2018;80:880-905. <https://doi.org/10.1007/s11538-018-0408-4>
33. Khan F, Spicarova Z, Zelenin S, Holtback U, Scott L, Aperia A. Negative reciprocity between angiotensin II type 1 and dopamine D1 receptors in rat renal proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;29(4):F1110-6. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.90336.2008>
34. Natarajan AR, Eisner GM, Armando I, Browning S, Pezzullo JC, Rhee L, et al. The renin-angiotensin and renal dopaminergic systems interact in normotensive humans. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:265-79. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014100958>
35. Rukavina Mikusic NL, Kouyoumdzian NM, Uceda A, et al. Losartan prevents the imbalance between renal dopaminergic and renin-angiotensin systems induced by fructose overload. *L-Dopa/dopamine*

index as new potential biomarker of renal dysfunction. *Metabolism* 2018;85:271-85. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.04.010>

36. Moreira-Rodrigues M, Quelhas-Santos J, Roncon-Albuquerque R, Serrão P, Leite-Moreira A, Sampaio-Maia B, et al. Blunted renal dopaminergic system in a mouse model of diet-induced obesity. *Exp Biol Med* 2012;237:949-55. <https://doi.org/10.1258/ebm.2012.012077>

37. Deji N, Kume S, Araki S, Soumura M, Sugimoto T, Isshiki K, et al. Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F118-26. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00110.2008>

38. Choi MR, Lee BM, Medici C, Correa A, Fernández BE. Effects

of angiotensin II on renal dopamine metabolism: synthesis, release, catabolism and turnover. *Nephron Physiol*. 2010;115:1-7. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00110.2008>

39. Chen S, Chen J, Li S, Guo F, Li A, Wu H, et al. High-fat diet-induced renal proximal tubular inflammatory injury: emerging risk factor of chronic kidney disease. *Front Physiol* 2021;12:786599. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.786599>

40. Zou J, Zhou X, Ma Y, Yu R. Losartan ameliorates renal interstitial fibrosis through metabolic pathway and Smurfs-TGF- β /Smad. *Biomed Pharmacother* 2022;149:112931. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112931>